

---

## 総 説

---

### マトリセルラータンパク質 (Matricellular proteins) の機能 — トロンボスポンジンを中心として —

上野 明道

キーワード：細胞外マトリックス (ECM), マトリセルラータンパク質,  
トロンボスポンジン (TSP) 1, 2, 多機能タンパク質, 細胞接着,  
マトリックス石灰化

### Functions of Matricellular Proteins in Cell-extracellular Matrix Interactions and Signaling: Focus on Thrombospondins

Akemichi UENO

**Abstract:** Matricellular proteins, components of the extracellular matrix (ECM) with no directly structural roles in the ECM, are expressed primarily during development and response to injury, but not abundant in the normal adults, except in tissues with continued turnover, such as bone. Members of this class including osteonectin, thrombospondin 1 (TSP1), thrombospondin 2 (TSP2), osteopontin, and tenascin-C serve as biological mediators of cell function by interacting directly with cells or by modulating the activity of growth factors, cytokines, proteases, and other extracellular macromolecules. In addition, matricellular proteins mediate cellular de-adhesion, which refers to a reversal of the adhesive process involving the transition from a strongly adherent state with focal adhesions and stress fibers to an intermediate state of adherence. The proteins stimulate reorganization of actin stress fibers and disassembly of focal adhesion complexes but maintain a spread cell shape, while employing each unique array of signaling. The adhesive state undergoes modulation in tissue remodeling during morphogenesis and wound healing, cellular metaplasia and proliferation, and tumor metastasis. Although matricellular protein-null mice are apparently normal possibly due to redundancy of these proteins, on more careful scrutiny they display some abnormalities in collagen fibril assembly, vascular morphology or density, and connective tissue organization that are often magnified under pathological conditions. In this review, TSP1 and TSP2 showing differential spatiotemporal expression in the developing skeleton will be mainly discussed in the context of mineralizing cell biology. TSP1 accumulates in both predentin and osteoid between mineralized and unmineralized tissues, whereas TSP2 acts an autocrine inhibitor of marrow stromal cell proliferation. In particular, it is clear that high levels of TSP1 inhibit pathophysiological mineralization and contribute to calcified tissue homeostasis in response to aging and remodeling as an interface molecule.

## はじめに

形態, 接着, 増殖, 移動, 分化に代表される細胞の形と振舞いは, 高等動物の発生・発達と疾病において極めて重要な役割を果たしている。生存のための適正な細胞応答は, 細胞外環境からの化学的, 生物物理的なシグナルを如何に巧く汲み取り, 統合処理していくかにかかっている。細胞と細胞外マトリックス (ECM) との相互作用は, こうした環境シグナルの主要なソースとなる。ECM には細胞種に応じた糖タンパク質, コラーゲン, プロテオグリカン, 増殖因子などが特異的な高次構造を保ちながら整合性よく配置されている。ECM は, 接着や細胞構造維持のための物理的足場となるだけでなく, これら ECM 分子を認識する細胞表面レセプターを介して, 細胞内情報伝達のためのメディエーターとしても機能する。多くの ECM 糖タンパク質は細胞接着を促進し, 細胞骨格の再構築を引き起こしたりして, 分化の方向付けや細胞が生き残るための情報伝達に重大な影響を及ぼす。このように, まず第一に ECM 構造タンパク質として機能する分子の例としては, フィブロネクチン, ラミニン, コラーゲン, ビトロネクチンなどが挙げられる。これら以外に, マトリセルラータンパク質 (Matricellular

Protein) と呼ばれ<sup>1)</sup>, 細胞-マトリックス相互作用のアダプター或いはメディエーターとして機能する別のクラスの ECM 分子が存在する。元来, オステオネクチン (SPARC/BM-40/ON), トロンボスポンジン1 (TSP1), テネイシン-C (TN-C) を指したが<sup>2)</sup>, 現在ではオステオポンチン (OPN), トロンボスポンジン2 (TSP2), テネイシン-X (TN-X), シンデカン-1~4なども含まれる<sup>3)</sup>。それぞれの遺伝子をノックアウトしても, 表面上では異常は認められず, 生殖能力を維持している。マトリセルラータンパク質は, 細胞表面レセプター, ECM, 増殖因子, プロテアーゼなどと相互作用するが (図1), それ自体では, 構造的役割を担わないか或いは寄与は小さい。また, 一次構造上では互いに関連性のない分泌性の糖タンパク質である。近年, 硬組織においてもそれらの重要性が認識されつつある。マトリセルラータンパク質の機能の概要を TSP を中心に紹介する。

## マトリセルラータンパク質の一般的性質

まず, 以下①~⑩にマトリセルラータンパク質に共通する性質を挙げるが, ECM 構造タンパク質との区別はそれ程明確な訳ではない。例えば, 多くの構造タンパク質も細胞表面レセプターのリガンドとして機能し, 細胞内情報伝達経路を活性化する。さらに, エンドスタチンのように構造タンパク質である XVIII 型コラーゲンの分解断片が, 血管新生抑制作用を発揮する例もある<sup>4)</sup>。それにもかかわらず, TSP1, 2などの機能はマトリセルラー概念の中で最も典型的で良く理解されている<sup>5)</sup>。

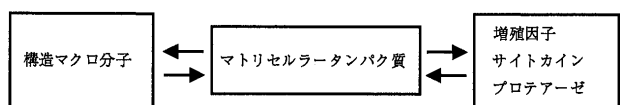


図1 相互依存関係にある細胞周囲環境  
マトリセルラータンパク質は他の主要なカテゴリー分子間の機能的な橋渡しをする。

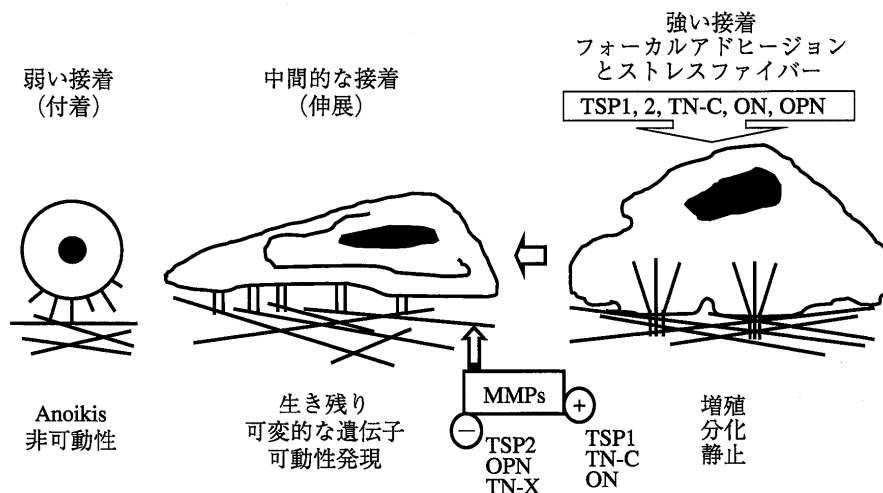


図2 細胞接着の各ステージとマトリセルラータンパク質による中間接着状態への誘導 (文献4より改変)  
細胞接着には, 付着, 伸展, ストレスファイバーとフォーカルアドヒージョンの形成の各過程があり, 右に進むほど細胞の接着力は増すが, 逆行可能である。伸展した形態とインテグリンのクラスタリングを維持しているが, ストレスファイバーやフォーカルアドヒージョンを解離した状態が中間的な接着である。弱い接着は, リモデリングの過程でのアポトーシスや細胞質分裂している状態を示す。強い接着は分化した静止細胞に特徴的で, 中間的な接着は形態形成や創傷治癒での組織リモデリングの応答時に認められる。TSP1, TSP2, TN-C, ON, OPN は一般的に矢印で示すように中間的な接着状態へ誘導する。

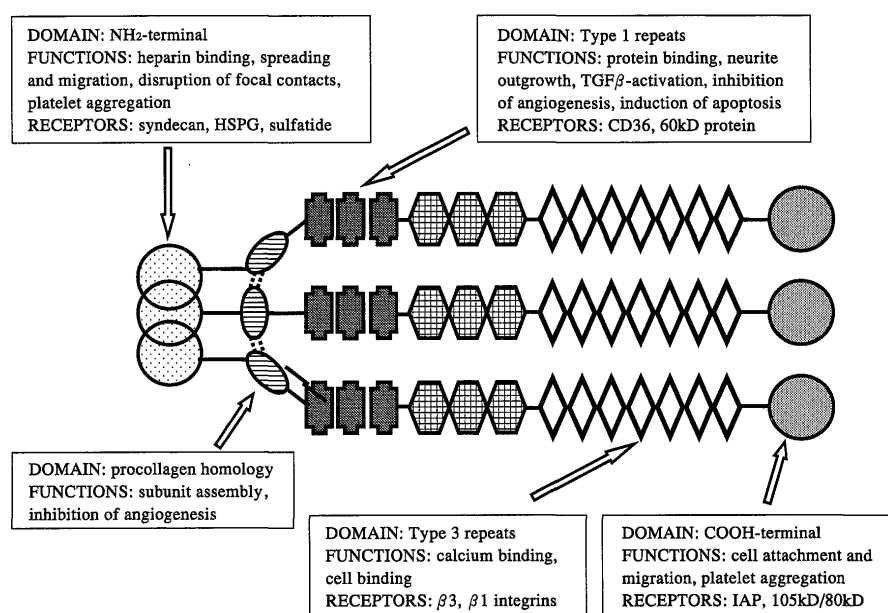


図3 TSP1の三量体構造と機能ドメイン

破線はジスルフィド結合を示す。TSP1の機能は、分解フラグメント、中和抗体、合成ペプチドを用いてマップされている。図中、タイプ2 (EGF様) リピートの記述は省略した。

表1 マトリセルラータンパク質によるMMPの活性制御とマトリセルラータンパク質ヌルマウスの特徴

マトリセルラータンパク質	MMP活性の調節	マトリセルラータンパク質ヌルマウスの特徴		参考文献
		マトリックスの特徴	創傷治癒時のマトリックスの特徴	
TSP1	促進 MMP-2	変化なし	変化なし	[25] [26]
TSP2	抑制 MMP-2	異常なコラーゲン原線維	大きく不規則なコラーゲン原線維	[25] [27] [28]
TN-C	促進 MMP-9	—	フィブロネクチンの沈着減少	[29] [30]
ON(SPARC)	促進 MMP-2	未成熟なコラーゲン原線維	小さく規則的なコラーゲン原線維	[31] [32] [33] [34]
OPN	抑制 MMP-2, -9	—	小さく規則的なコラーゲン原線維	[35] [36]
TN-X	抑制 MMP-2, -9	皮膚でのコラーゲン量の減少	—	[37] [38]

- ① ECMの種々の構造タンパク質と違って、線維或いは基底膜に代表される物理的実体の構築には直接は寄与しない。むしろ、細胞-マトリックスコミュニケーションを制御することによって、細胞機能に影響を及ぼす。
- ② 特異的な細胞表面レセプター、サイトカイン、増殖因子、プロテアーゼと相互作用することができ (図1)、これら分子の活性を調節するだけでなく、その利用 (bioavailability) がある一定の環境下に限定されるのを助ける。さらに、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) の制御は直接細胞の運動性に影響を及ぼす (図2)。
- ③ ユニットから構成されるモジュール式の構造を持ち、多機能性の基盤を成している (例えば図3)。立体構

造上その機能部位が隠されている場合もあり、環境条件の影響を受ける。

- ④ I型コラーゲン、ラミニンやフィブロネクチンのターゲティングマウスで見られるような重篤もしくは致死的な表現型とは正反対に、遺伝子を欠損させても表面的には際立った異常は認められない。これは部分的には代償性の応答や関連分子の重複機能による。ただし、ヌルマウスでの精緻な観察では、創傷治癒の速度 (ON, TSP1, 2, OPN, シンデカン-1)、コラーゲン原線維形成 (ON, TSP2)、血管の形態・分布 (ON, TSP1, 2)、炎症反応 (TSP1, OPN)、結合組織 (TN-X) などに微妙な異常が認められる。(表1)
- ⑤ ある条件下では、細胞-マトリックス相互作用を壊

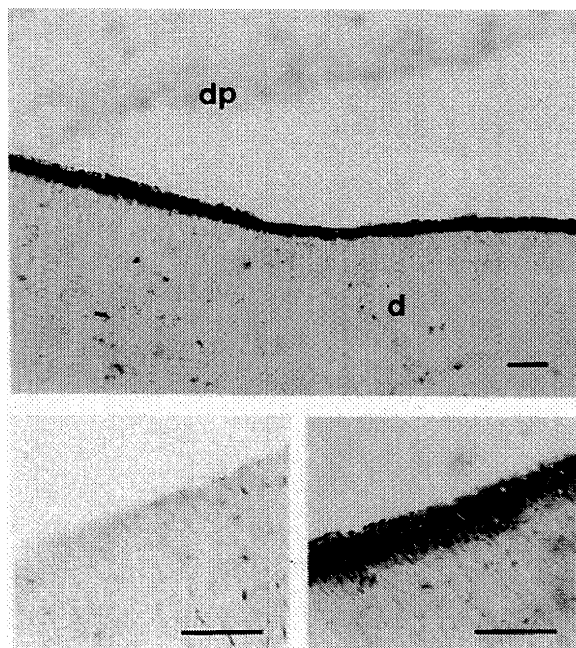


図4 象牙前質に局在する界面分子としてのTSP1  
ウシ前歯におけるTSP1の免疫組織化学的染色を示す。固定脱灰後の凍結切片を、一次抗体として抗TSP1モノクローナル抗体, 5G11 (上と右下) または正常ラットIgG (左下) で、二次抗体としてビオチン化抗ラットIgGで処理し、Vectastain ABC-GO キットを用いてTSP1を発色させた。“dp”と“d”は、それぞれ歯髄、象牙質を示す。バーの長さは25  $\mu$ mである。

し、リモデリング、形態形成、血管の増生などに関与する。

- ⑥しばしば細胞外アダプター、または界面分子として存在する (例えば図4)。
- ⑦可溶型とマトリックス固定型 (非溶解型) では、機能が異なる場合が多い。
- ⑧発達・成長過程や損傷に応答して発現され、骨のように連続的にターンオーバーする組織を除いては、健康成人には豊富には存在しない。
- ⑨創傷治癒のように比較的短時間に多量の分泌性構造タンパク質を必要とするときのマトリセルラータンパク質の調節的な役割は、正常な発達過程での役割と異なる。
- ⑩すべてが接着をもとにしたシグナリングの余剰性に寄与している。

#### 細胞接着・抗接着とマトリセルラータンパク質

細胞がECMへ接着する能力は、細胞骨格の構築と細胞形態の決定にとって重要である。細胞の形を制御することに加えて、細胞-ECM相互作用はまた、細胞が増殖し、移動し、そして分化する能力をも制御する。足場依存性の細胞は、生存のために細胞接着を必要とする。ECM-インテグリン相互作用が壊されたとき細胞はアポトーシスを余儀なくされる。接着に依存した細胞死を特に“anoikis”といい、不適切な場所での細胞増殖を防いだり発生の過程での空洞形成のために必要である<sup>6)</sup>。細胞接着には3つのステージが考えられる: 付着, 伸展, フォーカルアドヒージョンとストレスファイバーの形成である (図2)。細胞接着の第一段階は、シンデカンのような補助的なレセプターと一緒にインテグリンとそのECM基質との相互作用から始まる。ECM成分のインテ

グリンへの結合は、インテグリンのクラスターリングを誘導し、リガンドに対するインテグリンの親和性を増す。このインテグリン活性化に続いて、細胞はアクチンミクロフィラメントの形成と細胞伸展を通じてECM基質との細胞表面接着面積を増大させる。このステージが中間的な接着状態と考えられる<sup>7)</sup>。さらにマトリックスによって適当なシグナルが伝達されれば、フォーカルアドヒージョンやアクチン含有ストレスファイバーの形成に進む (強い接着状態)。これはECMタンパク質に対するレセプターと構造・情報伝達成分の足場とから成る。その情報伝達成分は、ストレスファイバーの終末を膜とECMへ結合させ、機械的なシグナルと生化学的なシグナルの両方を伝達する。また、細胞接着は逆行可能なプロセスである。

細胞の移動は、発生、創傷治癒、炎症のようなリモデリングの過程やがん細胞転移で最もよく見られる。一方、マトリセルラータンパク質の発現も発達の過程や損傷への応答時に上昇する。TSP1, TN-C, ONなどの機能の一つは、細胞を強い接着状態から離脱させ中間的な接着状態へ誘導して移動を容易にすることにある。一般的に細胞移動は発達したストレスファイバーとフォーカルアドヒージョンを持つ強い接着状態の細胞では低下している。一方、完全な丸い細胞は移動しない。中間的な接着状態が細胞の移動に最も適している<sup>8,9)</sup>。それは、細胞の移動は細胞の力 (細胞骨格の収縮能) の接着力 (インテグリン-マトリックス相互作用) に対する比が中間的な値であるときに生じるからである。強い接着では細胞が細胞骨格-ECM結合を解離させ難い。一方、弱い接着は細胞移動に必要な収縮力を生み出せない。

TSP1はテーリンやインテグリンなどの局在に影響を与えずに、フォーカルアドヒージョンプラークからピ

ンキュリンや  $\alpha$ -アクチニンなど特定の構造タンパク質の選択的消失を促進する。アクチンストレスファイバーと膜下のプラークとの結合は、インテグリン—ECM タンパク質結合に目に見える影響を与えることなく効果的に壊され、アクチンマイクロフィラメントは細胞周囲へ再配分される。こうした反応の少なくとも一部はホスホイノシチドである  $\text{PIP}_3$  の  $\alpha$ -アクチニンへの結合により起こる。これはインテグリン  $\beta$ -サブユニットの細胞質尾部への  $\alpha$ -アクチニンの結合をブロックする。アクチンストレスファイバーはもはやインテグリンには結合していないが、インテグリン—ECM 結合はそのままなので、細胞はまだ付着して伸張した状態 (中間的な接着) である。TSP1 の N-末端ヘパリン結合ドメイン (HBD) (図 3) が本活性を担っており、TSP1 のレセプター-コレセプターとして機能するのは膜のカベオラに存在するカルレティキュリン-LDL レセプター関連タンパク質 (LRP) である<sup>10)</sup>。カルレティキュリンシグナリングを介してのフォーカルアドヒージョンの解離は、百日咳毒素でブロックされ、ヘテロ三量体 G タンパク質 (Gai2) が関与する。HBD をペプチドとして発現させれば、解離を促すにはアミノ酸配列 17-35 (hep I と呼ばれる) で十分である。TSP2 の相当する配列にも相同性は低い (24 と 32 の位置に塩基性アミノ酸が保存されている) が同様な活性がある。TN-C (レセプターはアネキシン II) と ON の接着細胞の細胞骨格やフォーカルアドヒージョンに対する作用は、基本的には TSP1 のそれとは区別できない<sup>11)</sup>。これらのマトリセルラータンパク質は同一の状態を達成するために個別のシグナル伝達を利用する。TSP1 と TN-C は解離のために cGMP 依存性プロテインキナーゼ (PKG) を必要とするが、ON は必要としない。ON の活性はチロシンキナーゼ阻害剤でブロックされる。TSP1/hep I で伸介される細胞との相互作用は、Rho-A の不活性化を介して、フォーカルアドヒージョンキナーゼ (FAK) の一過性リン酸化、Gai2 に依存した ERK の活性化、ホスホイノシチド 3-キナーゼ (PI3K) の p85/p110 アイソフォームの活性化を引き起こす。この PI3K の活性化は、TSP1/hep I の機能に必須である。PI3K の阻害剤、ワートマニンと Ly294002 は TSP1 で誘導されるフォーカルアドヒージョンの解離とストレスファイバーの崩壊をブロックする。TSP1/hep I は PI3K の産物である  $\text{PIP}_3$  の細胞内レベルを上昇させ、 $\alpha$ -アクチニンと結合させる。その結果、インテグリン  $\beta$ -サブユニットと  $\alpha$ -アクチニンの相互作用を壊し、フォーカルアドヒージョンの構造を直接変えることができる。この時、可溶性の  $\alpha$ -アクチニンレベルの上昇とアクチンストレスファイバーの分散も同時におこる。TN-C や ON の活性は PI3K 阻害剤でブロックされないで、 $\text{PIP}_3$  とは無関係である。また、インスリン刺激は  $\text{PIP}_3$  を活性化するが、内皮細胞でフォーカルアドヒージョンの解離を誘導しないので、PI3K の別のアイソフォームかも

知れない。また、TN-C は Rho-A を抑制し FAK を介してフィブリンとフィブロンネクチンの機能を打ち消す<sup>12)</sup>。フォーカルアドヒージョンの解離を促進する TN-C のドメインはまた、デイスル上で細胞を傷つけるスクラッチアッセイにおいても内皮細胞の移動を促進させる<sup>12)</sup>。

MMPs は、マトリックス結合タンパク質やプロテオグリカン、そして接着受容体を切断することによって、細胞接着性を直接減少させることができる。TSP2, ProMMP-2, TIMP-2 は、分泌小胞と形質膜の融合によって個別あるいは一緒に分泌される。TIMP-2 と複合体を形成している ProMMP-2 は、膜結合型 MT1-MMP によって活性化され、MMP-2 を生じる。TSP2 は、ProMMP-2, MMP-2 のいずれとも結合可能で、細胞表面から競合的に (Pro) MMP-2 を除去することができる。TSP2/(Pro) MMP-2 複合体は LRP レセプターと結合してエンドサイトーシスされ、リソゾームで分解されるか、マトリックスに繋ぎ留められる。結果としてプロテアーゼの生体での利用率を減少させることができる<sup>13)</sup>。

マトリセルラータンパク質は、接着のきっかけと中間的なステージ (接着と拡がり) をサポートするが、強い細胞接着の特徴であるフォーカルアドヒージョンやストレスファイバーの形成を誘導することは殆どない。むしろ混ぜ合わせると、他の接着タンパク質の作用に拮抗する。また、接着後の細胞に可溶性状態で与えると、離脱活性を示したりする (抗接着)。TSP1 と TSP2 は同様に機能するが、TSP2-ヌルマウス由来の線維芽細胞は種々のタンパク質の土台に対して弱い接着能しか示さない。これは、TSP2-ヌルマウス線維芽細胞の培養上清中の活性 MMP-2 レベルが高いことによる (表 1)。TIMP-2 や抗 MMP-2 中和抗体を加えるか、TSP2 の発現ベクターで安定発現させると、接着は正常レベルまで戻る。このため、上昇した MMP-2 レベルが細胞接着を減少させたと考えられる。その際、ProMMP-2 の合成は促進されていないので、細胞周囲環境からのクリアランスが TSP2 欠損によって影響を受けたようだ<sup>13)</sup>。一般に、TSP1 と TSP2 の両者は多くのセリンプロテアーゼを阻害するが、TSP2 は MMP-2 のゼラチン分解活性は阻害しない。

### TSP1 と TSP2 の主な機能

TSP1 と TSP2 は 1 つのサブファミリーを形成していて、1 本鎖約 145kDa の 3 量体である。約 100kDa の 5 量体である TSP3~5 とは生理的役割も異なる。TSP1 は血小板  $\alpha$  顆粒に豊富に存在する成分で、トロンビンによって血小板を活性化すると遊離されるタンパク質として同定されたため、その名がある。放出された TSP1 は  $\text{Ca}^{2+}$  依存性に血小板の表面に結合する。TSP1 は IAP (integrin-associated protein) への結合によって  $\alpha\text{IIb}\beta 3$  インテグリンを活性化し、インテグリン、IAP、c-Src、FAK、Syk プロテインキナーゼを含む伝達複合体を形成し、結果として血小板の凝集を引き起こす。しかしな

がら、TSP1-ヌルマウスは、出血傷害がないばかりか、正常なトロンビン誘導性の血小板凝集を示す<sup>14)</sup>。逆に、TSP2は血小板に存在しないが、出血素質を示すのは、TSP2-ヌルマウスの方である<sup>15)</sup>。巨核球はTSP2を豊富に含んでいるが、断片化して血小板を作るときに、どのようにして失われるのかは不明である。いずれにしても、TSP1はフィブリンクロットに取り込まれ、多くの血漿タンパク質とともに出血部位で機能することは間違いなく、有力な走化性因子としても知られている。

TSP1とTSP2は両者とも損傷に应答して誘導されるが、異なった時間的、空間的パターンをとる。免疫組織化学で見るとTSP1は創傷後1日目から5日目まで、TSP2は4日目から発現が認められ10日目でピークを迎えるが、14日を越えても検出される<sup>5)</sup>。活性化された血小板が最初の2日間のTSP1のソースで、その後は浸潤したマクロファージがTSP1を多量に供給する。一方、TSP2の創傷後の主要なソースは線維芽細胞である。またMMP-2は4日目から検出される。

TSP1-ヌルマウスの特徴は上皮過形成、白血球浸潤、肺・脾臓での炎症変化などである<sup>14)</sup>。TSP1は好中球の接着をサポートし、好中球、単球の両方に走化性を示す。また、アポトーシスを起こした白血球のマクロファージによるファゴサイトーシスにも関与している。一つの理由は、TSP1不在下ではTGF- $\beta$ 1の潜在型から活性型への変換に欠陥が生じることによる<sup>16)</sup>。潜在型TGF- $\beta$ 1の活性化には、最初と2番目のリピートの間にあるKRFK活性化配列とTSP1の3つのタイプ1リピートの各々に存在するWXXW結合配列を必要とする。前者の配列はTSP2には存在せず、後者の結合配列のみ保存されているので、TSP2は潜在型TGF- $\beta$ 1に対して、TSP1と競合する。TGF- $\beta$ 1の欠損は正常な肺菌叢に対して過剰な免疫炎症応答に繋がり、実際TSP1-ヌルマウスでも、よりマイルドな形ではあるけれども、TGF- $\beta$ 1-ヌルマウスの組織学的な特徴の多くを示している<sup>16)</sup>。

TSP2-ヌルマウスでの切創はコントロールと同じ速度で上皮再生されるが、痂皮のロスと傷口の閉鎖は速まっている。治癒中の初期の高い血管密度はその肉芽組織で維持され、さらにフィブロネクチンの沈着促進とコラーゲン原線維の異常な組織化が観察される<sup>9)</sup>。また、過剰発現するトランスジェニックマウスでは逆の効果を示し、TSP1とTSP2はともに明らかな抗血管新生活性を示す。腫瘍血管新生の阻害が腫瘍細胞の増殖抑制に繋がるが、腫瘍間質に対する影響も無視できない。一方、可溶性のTSP1ペプチドが、 $\alpha$ 3 $\beta$ 1インテグリンを介して内皮細胞の増殖と血管新生を抑制するが、同一のペプチドを固定化（不溶化）した場合には、内皮細胞の増殖を促進するという結果がある<sup>17)</sup>。トータルのTSP1を用いた場合の解釈は複雑であるが、TSPの機能の決定にタンパク質のコンフォメーションが大きく関わっていることは間違いない。

TSP1は骨芽細胞の分化、例えばアルカリホスファターゼ活性の上昇と連動して、その発現が一過性に上昇することから分化マーカーの一つとも考えられた。一方、TSP2は比較的一定した発現パターンを示す<sup>18)</sup>。さらに、骨組織では類骨の部分に多く、成体の骨マトリックスには少ない<sup>19,20)</sup>。歯では象牙前質に多く、歯髄や象牙質には殆ど認められない（図4）<sup>21)</sup>。また歯髄細胞では、向骨性因子によりTSP1の発現が誘導される<sup>22)</sup>。これらの結果から、硬組織においては、創傷治癒の場合と同様、リモデリング初期や発達時には必要で組織が出来上がった後では、その硬組織周囲の界面分子として存在していると考えらる。実際にMC3T3-E1細胞をTSP1のアンチセンスオリゴヌクレオチドで処理すると石灰化が促進される。逆に発現ベクターに入れて安定発現株を分離すると、その発現量に応じて石灰化が抑制される。これは、*in vivo*でも観察される（図5）（Ueno et al., 投稿中）。

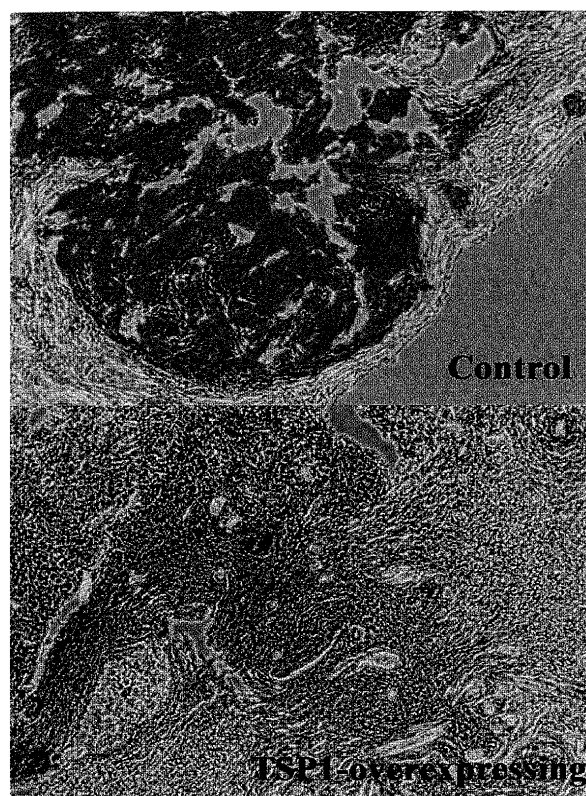


図5 TSP1過剰発現株の*in vivo*での骨形成  
MC3T3-E1細胞にpBK-CMV-mTSP1発現ベクターをトランスフェクションして安定過剰発現クローンを分離し、コラーゲンスポンジ中で培養後、SCIDマウスの背部皮下に移植した。4週間後に摘出し未脱灰の状態で切片をHE染色した。発現量の最も高いクローンのHE染色像（下）を示すが、発現量に比例して石灰化の抑制が認められた（データ省略）。コントロール（上）はpBK-CMVベクターをトランスフェクションしたクローンをを用いた。

また、血管周囲細胞でも同様な TSP1 による石灰化抑制作用が観察される<sup>23)</sup>。したがって、硬組織形成細胞に分化する過程ではマトリックスに存在して ECM の空間構造の調整に何らかの寄与をして、一旦マトリックス石灰化が起こり始めると石灰化中心から消失し、硬組織周囲 (類骨や象牙前質) にあって余剰な石化化が起こらないようバリアーとして機能すると考えられる。TSP1-ヌルマウスでは、骨組織の大きな変化は認められない。一方 TSP2-ヌルマウスでは、皮質が増加し長管骨の髄腔が狭くなっている。その際、骨内膜骨化は抑制されており、骨膜性骨化は促進されている。これは TSP2 が自己分泌性の骨髄間質細胞の増殖阻害因子であり、結果として骨芽細胞前駆細胞の細胞数増加を招いたことによる<sup>24)</sup>。

### 終わりに

コラーゲンや他のマトリックスタンパク質とマトリセルラータンパク質との結合は、ある種の細胞外アロステリズムを通じて細胞接着における微妙な変化を開始するために重要である。マトリセルラータンパク質が、細胞外スペースにあって、他のプロテオグリカンとともに細胞膜の両側で起こる様々な分子の生化学相互作用を調節することは、*in vitro* の実験から、ある程度解明された。ノックアウトマウスで見られるように、全動物を用いた複雑な環境下での解析についてはまだ課題が多い。変異を導入したり、或いはトランケートしたタンパク質を発現するノックインマウスの利用が一つの突破口になるかも知れない。

### 文 献

- 1) Bornstein P: Diversity of function is inherent in matricellular proteins: an appraisal of thrombospondin 1. *J Cell Biol* 130, 503-506 (1995)
- 2) Sage EH and Bornstein P: Extracellular proteins that modulate cell-matrix interactions. SPARC, tenascin, and thrombospondin. *J Biol Chem* 266, 14831-14834 (1991)
- 3) Bornstein P and Sage EH: Matricellular proteins: extracellular modulators of cell function. *Curr Opin Cell Biol* 14, 608-616 (2002)
- 4) O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, Fukai N, Vasios G, Lane WS, Flynn E, Birkhead JR, Olsen BR and Folkman J: Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* 88, 277-285 (1997)
- 5) Bornstein P, Agah A and Kyriakides TR: The role of thrombospondins 1 and 2 in the regulation of cell-matrix interactions, collagen fibril formation, and the response to injury. *Int J Biochem Cell Biol* 36, 1115-1125 (2004). Erratum in: *Int J Biochem Cell Biol* 37, 239-240 (2005)
- 6) Chen CS, Mrksich M, Huang S, Whitesides GM and Ingber DE: Geometric control of cell life and death. *Science* 276, 1425-1428 (1997)
- 7) Murphy-Ullrich JE: The de-adhesive activity of matricellular proteins: is intermediate cell adhesion an adaptive state? *J Clin Invest* 107, 785-790 (2001)
- 8) DiMilla PA, Barbee K and Lauffenburger DA: Mathematical model for the effects of adhesion and mechanics on cell migration speed. *Biophys J* 60, 15-37 (1991). Erratum in: *Biophys J* 60, 983 (1991)
- 9) Palecek SP, Loftus JC, Ginsberg MH, Lauffenburger DA and Horwitz AF: Integrin-ligand binding properties govern cell migration speed through cell-substratum adhesiveness. *Nature* 385, 537-540 (1997). Erratum in: *Nature* 388, 210 (1997)
- 10) Orr AW, Pedraza CE, Pallero MA, Elzie CA, Goicoechea S, Strickland DK and Murphy-Ullrich JE: Low density lipoprotein receptor-related protein is a calreticulin coreceptor that signals focal adhesion disassembly. *J Cell Biol* 161, 1179-1189 (2003). Erratum in: *J Cell Biol* 162, 521 (2003)
- 11) Chung CY, Murphy-Ullrich JE and Erickson HP: Mitogenesis, cell migration, and loss of focal adhesions induced by tenascin-C interacting with its cell surface receptor, annexin II. *Mol Biol Cell* 7, 883-892 (1996)
- 12) Midwood KS and Schwarzbauer JE: Tenascin-C modulates matrix contraction via focal adhesion kinase- and Rho-mediated signaling pathways. *Mol Biol Cell* 13, 3601-3613 (2002)
- 13) Yang Z, Strickland DK and Bornstein P: Extracellular matrix metalloproteinase 2 levels are regulated by the low density lipoprotein-related scavenger receptor and thrombospondin 2. *J Biol Chem* 276, 8403-8408 (2001)
- 14) Lawler J, Sunday M, Thibert V, Duquette M, George EL, Rayburn H and Hynes RO: Thrombospondin-1 is required for normal murine pulmonary homeostasis and its absence causes pneumonia. *J Clin Invest* 101, 982-992 (1998)
- 15) Kyriakides TR, Zhu YH, Smith LT, Bain SD, Yang Z, Lin MT, Danielson KG, Iozzo RV, LaMarca M, McKinney CE, Ginns EI and Bornstein P: Mice that lack thrombospondin 2 display connective tissue abnormalities that are associated with disordered collagen fibrillogenesis, an increased vascular density, and a bleeding diathesis. *J Cell Biol* 140, 419-430 (1998)
- 16) Crawford SE, Stellmach V, Murphy-Ullrich JE, Ribeiro SM, Lawler J, Hynes RO, Boivin GP and Bouck N: Thrombospondin-1 is a major activator of TGF-beta 1 *in vivo*. *Cell* 93, 1159-1170 (1998)
- 17) Chandrasekaran L, He CZ, Al-Barazi H, Krutzsch HC, Iruela-Arispe ML and Roberts DD: Cell contact-dependent activation of alpha 3 beta 1 integrin modulates endothelial cell responses to thrombospondin-1. *Mol Biol*

- Cell 11, 2885-2900 (2000)
- 18) Sherbina NV and Bornstein P: Modulation of thrombospondin gene expression during osteoblast differentiation in MC3T3-E1 cells. *Bone* 13, 197-201 (1992)
  - 19) Robey PG, Young MF, Fisher LW and McClain TD: Thrombospondin is an osteoblast-derived component of mineralized extracellular matrix. *J Cell Biol* 108, 719-727 (1989)
  - 20) Grzesik WJ and Robey PG: Bone matrix RGD glycoproteins: immunolocalization and interaction with human primary osteoblastic bone cells in vitro. *J Bone Miner Res* 9, 487-496 (1994)
  - 21) Ueno A, Yamashita K, Nagata T, Tsurumi C, Miwa Y, Kitamura S and Inoue H: cDNA cloning of bovine thrombospondin 1 and its expression in odontoblasts and preodontoblasts. *Biochim Biophys Acta* 1382, 17-22 (1998)
  - 22) Pramanik R, Ueno A, Nishikawa H, Nagata T and Inoue H: Osteotropic factor-stimulated synthesis of thrombospondin in rat dental pulp cells. *FEBS Lett* 393, 193-196 (1996). Erratum in: *FEBS Lett* 415, 352 (1997). Islam MR [corrected to Pramanik R].
  - 23) Canfield AE, Sutton AB, Hoyland JA and Schor AM: Association of thrombospondin-1 with osteogenic differentiation of retinal pericytes in vitro. *J Cell Sci* 109, 343-353 (1996)
  - 24) Hankenson KD and Bornstein P: The secreted protein thrombospondin 2 is an autocrine inhibitor of marrow stromal cell proliferation. *J Bone Miner Res* 17, 415-425 (2002)
  - 25) Agah A, Kyriakides TR, Lawler J and Bornstein P: The lack of thrombospondin-1 (TSP1) dictates the course of wound healing in double-TSP1/TSP2-null mice. *Am J Pathol* 161, 831-839 (2002)
  - 26) Lee T, Esemuede N, Sumpio BE and Gahtan V: Thrombospondin-1 induces matrix metalloproteinase-2 activation in vascular smooth muscle cells. *J Vasc Surg* 38, 147-154 (2003)
  - 27) Kyriakides TR, Tam JW and Bornstein P: Accelerated wound healing in mice with a disruption of the thrombospondin 2 gene. *J Invest Dermatol* 113, 782-787 (1999)
  - 28) Yang Z, Kyriakides TR and Bornstein P: Matricellular proteins as modulators of cell-matrix interactions: adhesive defect in thrombospondin 2-null fibroblasts is a consequence of increased levels of matrix metalloproteinase-2. *Mol Biol Cell* 11, 3353-3364 (2000)
  - 29) Tremble P, Chiquet-Ehrismann R and Werb Z: The extracellular matrix ligands fibronectin and tenascin collaborate in regulating collagenase gene expression in fibroblasts. *Mol Biol Cell* 5, 439-53 (1994)
  - 30) Forsberg E, Hirsch E, Frohlich L, Meyer M, Ekblom P, Aszodi A, Werner S and Fassler R: Skin wounds and severed nerves heal normally in mice lacking tenascin-C. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 6594-6599 (1996)
  - 31) Bradshaw AD, Reed MJ and Sage EH: SPARC-null mice exhibit accelerated cutaneous wound closure. *J Histochem Cytochem* 50, 1-10 (2002). Erratum in: *J Histochem Cytochem* 50, 875 (2002)
  - 32) Gilles C, Bassuk JA, Pulyaeva H, Sage EH, Foidart JM and Thompson EW: SPARC/osteonectin induces matrix metalloproteinase 2 activation in human breast cancer cell lines. *Cancer Res* 58, 5529-5536 (1998)
  - 33) Jacob K, Webber M, Benayahu D and Kleinman HK: Osteonectin promotes prostate cancer cell migration and invasion: a possible mechanism for metastasis to bone. *Cancer Res* 59, 4453-4457 (1999)
  - 34) Bradshaw AD and Sage EH: SPARC, a matricellular protein that functions in cellular differentiation and tissue response to injury. *J Clin Invest* 107, 1049-1054 (2001)
  - 35) Liaw L, Birk DE, Ballas CB, Whitsitt JS, Davidson JM and Hogan BL: Altered wound healing in mice lacking a functional osteopontin gene (spp1). *J Clin Invest* 101, 1468-1478 (1998)
  - 36) Xie Z, Singh M, Siwik DA, Joyner WL and Singh K: Osteopontin inhibits interleukin-1 $\beta$ -stimulated increases in matrix metalloproteinase activity in adult rat cardiac fibroblasts: role of protein kinase C- $\zeta$ . *J Biol Chem* 278, 48546-48552 (2003)
  - 37) Mao JR, Taylor G, Dean WB, Wagner DR, Afzal V, Lotz JC, Rubin EM and Bristow J: Tenascin-X deficiency mimics Ehlers-Danlos syndrome in mice through alteration of collagen deposition. *Nat Genet* 30, 421-425 (2002)
  - 38) Matsumoto K, Takayama N, Ohnishi J, Ohnishi E, Shirayoshi Y, Nakatsuji N and Ariga H: Tumour invasion and metastasis are promoted in mice deficient in tenascin-X. *Genes Cells* 6, 1101-11 (2001)